

論文内容の要旨

論文提出者氏名 山中 亮悦

論文題目

TIGAR reduces smooth muscle cell autophagy to prevent pulmonary hypertension

論文内容の要旨

肺動脈性肺高血圧症(PAH)は進行性かつ予後不良の疾患で、その病態は未だ不明瞭な部分が多い。治療法はいずれも有効性に乏しく、早急な病態解明と、新規治療標的の発見が望まれている。

我々のグループではこれまで癌抑制因子 p53 について多数の報告を行ってきたが、最近 p53 が PAH を改善させることが報告されている。ただし発癌との関連性から p53 は治療標的にはなりがたいため、その下流の分子である TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator (TIGAR) に着目した。TIGAR は解糖系を抑制し、ROS 産生を抑制し、autophagy を抑制する機能をもつが、ROS、autophagy はそれぞれ PAH を悪化させることが報告されている。これまで TIGAR と PAH の関連性についての報告はないが、PAH を改善させる p53 の下流にあり、PAH を悪化させる ROS、autophagy を抑制させる機能をもつことから、TIGAR が PAH に対して抑止的に機能すると仮定し、これを検証することを研究目的とした。

まず in vivo において、TIGAR KO マウスと WT マウスを 6 週間の 10%低酸素下で飼育し低酸素誘発性肺高血圧モデルを作成した。低酸素負荷中の死亡率は TIGAR KO マウスが WT マウスに比較して有意に高く、また低酸素負荷後に測定した肺動脈圧、右室重量は有意に上昇していた。さらに採取した肺組織は肺細動脈において中膜の肥厚が認められ、免疫染色からは平滑筋細胞の増殖が示されたが、それらの変化は TIGAR KO マウスにおいてより顕著であった。抽出した蛋白では低酸素負荷後に autophagy、ROS がそれぞれ亢進しており、その亢進も TIGAR KO マウスにおいてより顕著であった。これらの結果から、TIGAR KO マウスは WT マウスと比較して、低酸素誘発性肺高血圧をより悪化させること、autophagy、ROS をより亢進させることが結論づけられた。

続いて in vitro において TIGAR がどのような機序で肺高血圧に関連するかを検討した。In vivo における低酸素負荷後の肺組織では内皮細胞と比較して、平滑筋細胞がより顕著に増殖していたことからヒト肺動脈平滑筋細胞(HPASMC)を使用し、同培養細胞で siRNA を用いて TIGAR を knockdown し、1%低酸素チャンバーで 24 時間培養することで低酸素負荷モデルを確立した。TIGAR knockdown、低酸素負荷後の HPASMC は negative control

と比較し、autophagy、ROS が亢進していた。また TIGAR knockdown、低酸素負荷により亢進した autophagy は ROS 阻害薬で部分的な抑制を認めたことから、これらの autophagy 亢進は ROS の亢進を介していることも確認された。また TIGAR knockdown、低酸素負荷後の HPASMC は negative control と比較して、遊走能、増殖能が著明に亢進することを、それぞれ scratch assay、WST-1 assay によって示した。さらに autophagy 阻害薬、ROS 阻害薬の投与によって遊走能、増殖能の亢進は部分的に阻害されたことから、TIGAR knockdown、低酸素負荷後の遊走能、増殖能の亢進は autophagy、ROS を介していることも示された。これらの結果から、HPASMC は TIGAR knockdown と低酸素負荷によって autophagy、ROS を亢進させ、それによって遊走能、増殖能が亢進すると考えられる。

上述の in vivo, in vitro の実験結果をまとめると、TIGAR は低酸素下において autophagy、ROS の抑制を介して肺細動脈の平滑筋細胞の過剰な遊走、増殖を抑制し、肺高血圧の抑止に働くことが推定される。まださらなる検討が必要な点が多いが、本研究は TIGAR が PAH の新しい治療標的となりうることを示唆している。